



Resultados de Investigación 2000



ISC
Instituto
de Salud
Carlos III

Ministerio de Sanidad y Consumo

Secretaría General
OTRI

RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN 2000



Instituto de Salud Carlos III

Ministerio de Sanidad y Consumo

Edita:
Instituto de Salud Carlos III
Ministerio de Sanidad y Consumo
C/. Sinesio Delgado, 6
28029 Madrid

NIPO: 354-02-003-9
Depósito Legal: M-32659-2002

Imprime:
RUMAGRAF, S. A.
Avda. Pedro Díez, 25
28019 Madrid

PRESENTACIÓN

La publicación recoge los resúmenes de las memorias finales de los proyectos de investigación finalizados en 2000 desarrollados en el Instituto. Obedece a uno de los objetivos de la Oficina de Resultados de Investigación, OTRI, de difundir los resultados de investigación obtenidos para facilitar así su utilización por la sociedad.

OTRI-ISCIH

SIGLAS utilizadas en el apartado Entidad Financiadora

FIS: Fondo de Investigación Sanitaria.

CM: Comunidad de Madrid

CICYT: Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología.

IMUJER: Instituto de la mujer.

JCCLM: Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

MAE: Ministerio de Asuntos Exteriores.

UE: Unión Europea

ÍNDICE POR PALABRAS CLAVE

- AFLP: 20
AGUA RESIDUAL: 45
ANÁLISIS MUTACIONAL: 35
ANOPHELES GAMBIAE S.S.: 20
ANTICUERPOS MONOCLONALES: 40
ANTIFÚNGICOS: 32
ANTIMALÁRICOS: 32
AÑOS DE VIDA AJUSTADOS POR DISCAPACIDAD: 48, 49
ARBOVIRUS: 39
ÁREAS ENDÉMICAS: 16, 17
ARTRITIS: 37, 38
ASMA: 34
ATENCIÓN MÉDICA: 53
ATPasas DE PROTONES: 29, 32
AUTOINMUNIDAD: 16, 17
B. BURGDORFERI: 16, 17
B. IBERICA: 16, 17
BARRERA HEMATOENCEFÁLICA: 47
BIOENSAYO: 45
BIOINDICADORES: 47
BRONQUIOLITIS: 34
BUNYAVIRIDAE: 25
CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS: 46, 47
CARGA DE ENFERMEDAD: 48, 49
CARGA VIRAL: 33
Cd: 46, 47
CD46: 37
COESTIMULACIÓN: 37, 38
CONOCIMIENTOS ASIMILADOS: 51
CONTROL DE EXPRESIÓN DE GENES: 30
CRIOCOCO: 32
Crry/p65: 37, 38
DEGENERACIÓN NEURONAL: 46
DISCAPACIDAD: 48
DROGAS ANTIFÚNGICAS: 29
DROGAS ANTIMALÁRICAS: 29
DURABILIDAD: 56
EFICACIA BIOLÓGICA: 31
EMERGENTES: 39
ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES HUMANAS: 15
ENFERMEDAD INVASIVA: 21, 23
ENTEROVIRUS: 39
EPIDEMIOLOGÍA: 15, 21, 53
ESTUDIANTE DE ENFERMERÍA: 51
ESTUDIO DE ENFERMEDADES: 54
EVALUACIÓN DE RESULTADOS: 53
EXPRESIÓN GÉNICA: 19
FACTORES DE VIRULENCIA: 16, 17
Fe: 46, 47
FENOTIPO VIRAL: 33
FIBROSIS QUÍSTICA: 43
FLAGELINAS: 43
FORMACIÓN: 51
GEN NEF: 33
GENOTOXICIDAD: 9, 46
GUARANÁ: 11
HAEMOPHILUS: 21, 23
HERPESVIRUS: 39
Hg: 46, 47
HISTORIA NATURAL: 12
HISTORIAS CLÍNICAS: 13
HL-60: 46
IMPACTO POBLACIONAL EN LA SALUD: 53
INFECCIÓN HOSPITALARIA: 51
INTERLEUQUINA 4: 19
ISOENZIMAS: 41
IXODES RICINUS: 16, 17
LEISHMANIA: 40
LIGANDOS RNA: 36
LINFOCITOS T: 38
LINFOHEMOPOIESIS: 26
MALARIA: 20
MARCADOR MOLECULAR: 42
MEDIAS DE COMPRESIÓN TERAPÉUTICA: 56
MEDIDAS DE SALUD SINTÉTICAS: 49
MENINGITIS VÍRICA: 25
MENINGOCOCO: 41
METALOTIONEÍNA: 46
METODOLOGÍA DE SELEX: 35
MÉTODOS DE ENSAYO: 56
MORBILIDAD: 54
MORFOGÉNESIS: 35
MORTALIDAD: 48, 54
NEUMOCOCO: 32
NFAT: 19
NFκB: 19
Ni: 46
ORNITHODOROS ERRATICUS: 16, 17
OZONO TROPOSFÉRICO: 44

P. AERUGINOSA: 43	SALUD PÚBLICA: 15
PATOGENICIDAD: 33	SELEX: 36
Pb: 46, 47	SEROCONVERSIÓN: 12
PCR-GENÉRICA: 39	SIDA: 12
PERÍODO DE INCUBACIÓN: 12	STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE: 30
PHLEBOVIRUS: 25	STREPTOCOCO: 37
POLIMORFISMO: 20	SUPERVIVENCIA: 12
PONDERACIÓN DE DISCAPACIDADES: 49	TAURINA: 11
PREVENCIÓN: 51	TOXICIDAD: 45
PROGRESIÓN: 12	TRANSCRIPTASA EN REVERSO: 31
PROTEÍNA M: 37	TUBERCULOSIS: 13
PROTEÍNAS REGULADORAS DE COMPLE- MENTO: 38	VACUNAS: 33
PULSOTIPO: 41	VARIANTES: 31
RADIOFRECUENCIA: 47	VHB: 51
REINFECCIONES: 34	VIABILIDAD CELULAR: 9
REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN: 35	VIGILANCIA: 15
RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS: 21	VIH/SIDA: 51
RESISTENCIA: 31	VIH: 12
RESPUESTA DE LOS ANTICUERPOS: 34	VIH-1: 33
RESULTADOS DEL TRATAMIENTO: 13	VIRUS DE LA GRIPE: 36
RIESGOS LABORALES: 51	VIRUS TOSCANA: 25
	VRS: 34

INVESTIGADOR PRINCIPAL: BECERRIL MORAL, CONCEPCIÓN

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE ALIMENTACIÓN

ENTIDAD FINANCIADORA: MCYT **Importe concedido:** 17.002,63 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: VALORACIÓN ECOTOXICOLÓGICA DE EFLUENTES INDUSTRIALES SOBRE ORGANISMOS ACUÁTICOS: VALIDACIÓN DE SISTEMAS ALTERNATIVOS Y BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN EN GENOTOXICIDAD

PALABRAS CLAVE: GENOTOXICIDAD, VIABILIDAD CELULAR

CÓDIGO UNESCO: 2407.01; 3206.11; 3214

RESUMEN:

Objetivos:

1. Validar los sistemas *in vitro* de valoración de genotoxicidad desarrollados anteriormente con efluentes o muestras complejas de diferente composición.
2. Validar *in vivo* las metodologías desarrolladas de detección de genotoxicidad con especies piscícolas.

Resultados:

Científicos:

- Se ha proporcionado un protocolo completo *in vitro* en la línea celular RTG-2 derivada de trucha arcoiris para muestras complejas, que permite detectar su toxicidad aguda y genotoxicidad (tanto alteraciones citogenéticas como mutaciones en el DNA genómico) con volúmenes de muestra muy reducidos (menos de 100 ml) y en períodos cortos de tiempo.
- Se ha comprobado que la medida automatizada por citometría de flujo de la frecuencia de micronúcleos, permite realizar estimaciones en poblaciones de peces abordando un mayor número de individuos y estableciendo con mucha más seguridad los resultados, ya que se incrementa en más de 20 veces el número de células con relación a la medida tradicional por conteo microscópico.
- La optimización tanto de la técnica de RAPDs como del análisis cuantitativo de los datos al aplicarlo en poblaciones naturales, permite determinar el grado de variabilidad intra e interpoblacional aportando información acerca de las condiciones poblacionales de una determinada especie y la posible relación con diferentes procesos de contaminación.
- La validación de esta técnica *in vitro* permite el análisis sistemático de un gran número de muestras sin los problemas experimentales y el alto costo que conllevan los sistemas *in vivo*.
- Adicionalmente, el uso de este tipo de biomarcadores de exposición (células de sangre periférica) en los que no es requisito imprescindible el sacrificio del individuo de estudio, permite realizar el seguimiento a lo largo del tiempo de población.

nes, lo que en definitiva permite establecer las relaciones causa/efecto a corto, medio y largo plazo.

Tecnológicos:

El desarrollo realizado en este proyecto ofrece la posibilidad de que con un volumen muy reducido de sangre (0,1 ml) se pueda obtener información tan relevante como la aparición de alteraciones genéticas irreversibles y determinar, además, si una población está siendo modificada genéticamente en su conjunto (*in vivo*). Se ha ahondado y confirmado que la multiexpresión de resultados de toxicidad (*toxicidad aguda, alteraciones citogenéticas, mutaciones en el DNA, alteraciones embriolarvales*) proporciona la base científica para establecer con más seguridad los Niveles de No Efecto de vertidos industriales, sirviendo como soporte realista a la legislación que sobre vertidos existe en nuestro país y a las recomendaciones que se ofrecen por parte de los organismos comunitarios.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: ORTIZ GUTIÉRREZ, ANA ISABEL

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE ALIMENTACIÓN

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 18.030,36 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA Y PERSPECTIVAS SOCIALES DEL CONSUMO DE BEBIDAS Y PRODUCTOS ALIMENTICIOS QUE CONTIENEN TAURINA Y GUARANÁ

PALABRAS CLAVE: TAURINA, GUARANÁ

CÓDIGO UNESCO: 3206.11; 3214

RESUMEN:

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que el guaraná (uno de los productos presentes en las denominadas «bebidas energéticas, estimulantes, etc.») produce a determinadas concentraciones un significativo efecto citotóxico *in vitro*. Sin embargo, estas concentraciones no mostraron efectos genotóxicos aunque, por el contrario, se ha podido observar una mayor inducción de formación de micronúcleos a las concentraciones más bajas estudiadas (15 mg/ml).

Nuevos ensayos que se están realizando actualmente en nuestro laboratorio parecen sugerir que los efectos adversos del guaraná sobre los cultivos celulares podrían ser debidos a la formación de radicales libres. Si esta hipótesis se llegara a confirmar sería muy interesante poder concluir los estudios de apoptosis y de reversión de la toxicidad mediante la adición de productos con actividad antioxidante.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: CASTILLA CATALÁN, JESÚS

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 33.800,92 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: IDENTIFICACIÓN DE FACTORES QUE AFECTAN A LA HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR EL VIH EN UNA COHORTE DE PERSONAS CON FECHA DE INFECCIÓN CONOCIDA

PALABRAS CLAVE: VIH, SEROCONVERSIÓN, SIDA, SUPERVIVENCIA, PERÍODO DE INCUBACIÓN, PROGRESIÓN, HISTORIA NATURAL

CÓDIGO UNESCO: 3202

RESUMEN:

Objetivos:

Estudiar la distribución del período de incubación del SIDA, la supervivencia desde la seroconversión por VIH, y los factores que afectan la duración de estos períodos.

Diseño:

Estudio de cohortes con un componente retrospectivo y otro prospectivo.

Ámbito:

Centro Sanitario Sandoval y Hospital Carlos III de Madrid.

Sujetos del estudio:

Todos los individuos que cumplan el criterio de seroconvertor cuya seroconversión esté documentada en los centros mencionados.

Resultados:

Se han obtenido datos sobre características generales de los seroconvertores, proporción de sujetos que han desarrollado SIDA durante el estudio, enfermedades más frecuentes, estimación de la mediana del período de incubación del SIDA y de supervivencia desde la seroconversión. La edad y el período de calendario (como variable tiempo-dependiente) estuvieron asociados de forma estadísticamente significativa con la progresión a SIDA, pero no el sexo ni la categoría de transmisión.

Conclusiones:

Se muestran los primeros datos españoles sobre cambios en el período de incubación del SIDA y única información específicamente en el colectivo homosexual en España. Se observa un aumento del período de incubación del SIDA en los últimos tres años asociado al período de calendario en el que se ha introducido la terapia HAART. A mayor edad en el momento de la seroconversión, la progresión a SIDA es más rápida, sin diferencias por sexo o categoría de transmisión. El riesgo de muerte ha disminuido también en estos años. El seguimiento de la cohorte de seroconvertores permitirá estimar nuevos cambios en el período de incubación y supervivencia en los próximos años.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: DÍEZ RUIZ-NAVARRO, MERCEDES

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 18.030,36 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: PROYECTO MULTICÉNTRICO DE INVESTIGACIÓN SOBRE TUBERCULOSIS (PMIT) - RESULTADOS DEL TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSOS

PALABRAS CLAVE: TUBERCULOSIS, RESULTADOS DEL TRATAMIENTO, HISTORIAS CLÍNICAS

CÓDIGO UNESCO: 3202

RESUMEN:

Objetivos:

Evaluar el resultado del tratamiento antituberculoso y sus factores determinantes, y estimar las modificaciones realizadas al tratamiento inicial y los factores asociados con ellas.

Diseño:

Cohorte retrospectiva de los casos iniciales que se identificaron a través del PMIT entre mayo 1996 y abril 1997, excluyendo los diagnosticados en prisión, los que no tenían historia clínica y los diagnosticados en CC.AA. que han declinado participar.

Ámbito:

CC.AA. incluidas en el estudio.

Sujetos del estudio:

Pacientes tuberculosos identificados a través del PMIT, excepto los incluidos en las exclusiones que se especifican.

Instrumentación:

Revisión de Historias Clínicas (HC) y búsqueda de los pacientes en cuya HC no existía información en registros de mortalidad para verificar si estaban muertos o no antes de la fecha prevista de finalización de tratamiento.

Determinaciones:

1. Información en la HC suficiente para evaluar el resultado del tratamiento.
2. Resultados del tratamiento:
 - a) Satisfactorio.
 - b) Muerte.
 - c) Potencialmente insatisfactorio; factores asociados.
3. Modificaciones del tratamiento (%) y factores asociados.

Resultados:

4.899 enfermos tuberculosos cumplieron los criterios de inclusión, de los que en 4.240 (86,6%) se obtuvo información en la HC sobre el resultado del tratamiento. Se constató un resultado satisfactorio en 3.417 enfermos (69,7%), 438 (8,9%) murieron antes de iniciar el tratamiento o durante su transcurso y 1.044 (21,4%) cumplieron la definición de resultado potencialmente insatisfactorio. Se hallaron variaciones importantes por CC.AA., nacionalidad, grupo de edad, estado VIH, uso de drogas por vía parenteral, antecedentes de alcoholismo y localización de la enfermedad.

Conclusiones:

Los resultados del tratamiento antituberculoso en España no alcanzan los niveles recomendados por la OMS para lograr un control efectivo de la enfermedad. Sería preciso, por tanto, analizar las causas y plantear medidas para mejorar la situación.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PEDRO CUESTA, JESÚS DE

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 92.537,83 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: ENFERMEDAD DE CREUTZFELDT-JAKOB EN ESPAÑA: INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO

PALABRAS CLAVE: ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES HUMANAS, EPIDEMIOLOGÍA, SALUD PÚBLICA, VIGILANCIA

CÓDIGO UNESCO: 3202

RESUMEN:

Objetivos:

1. Estudiar posibles cambios en la incidencia, factores de riesgo, marcadores genéticos y manifestaciones clínicas de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
2. Desarrollar y validar test diagnósticos y producir material informativo.
3. Estudiar la incidencia de la nueva variante (NVECJ) y, en general, la posible relación de la encefalopatía bovina con la enfermedad en humanos.

Diseño:

Estudio multicéntrico europeo, descriptivo y analítico.

Ámbito:

Alemania, España, Francia, Holanda, Italia, Gran Bretaña, Suiza, Eslovaquia y Australia.

Pacientes:

Enfermos diagnosticados de ECJ registrados por sistemas de vigilancia nacionales.

Determinaciones:

Parámetros clínicos. Ocupación, genotipo, dieta, historia médica y quirúrgica. Utilización de fármacos, suturas, etc. (particularmente con componentes de origen bovino).

INVESTIGADOR PRINCIPAL: ANDA FERNÁNDEZ, PEDRO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 119.589,39 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: BORRELIOSIS EN ESPAÑA. FACTORES DE PATOGENICIDAD Y RESPUESTA INMUNE. ESTUDIO DE ZONAS ENDÉMICAS (Proyecto coordinación)

PALABRAS CLAVE: B. BURGDORFERI, B. IBERICA, IXODES RICINUS, ORNITHODOROS ERRATICUS, FACTORES DE VIRULENCIA, AUTO-INMUNIDAD, ÁREAS ENDÉMICAS

CÓDIGO UNESCO: 2412.03; 2414.04

RESUMEN:

Objetivos:

Estudio de la correlación entre características moleculares de *Borrelia* spp., su patogenicidad en animales y vectores y la evolución de la enfermedad en el modelo animal, mecanismos de autoinmunidad en la patogénesis de borreliosis. Estudio de zonas endémicas de la enfermedad de Lyme y fiebre recurrente. Localización de reservorios y estudio de la relación vector-microorganismo.

Diseño:

Caracterización molecular de cepas de *Borrelia* spp. mediante una batería de marcadores feno y genotípicos, y estudio de la patogenicidad de las mismas en animales y vectores. Estudio epidemiológico en zonas endémicas (localización de casos humanos y aislamiento de nuevas cepas). Duración de tres años.

Ámbito del estudio:

Zonas endémicas de La Rioja, Castilla y León, Andalucía y País Vasco a nivel de atención primaria. Las garrapatas (*I. ricinus* y *Ornithodoros erraticus*) serán recogidas de las mismas zonas. Comunidad Autónoma Vasca.

Sujetos del estudio:

Ejemplares de *I. ricinus* de vegetación y de *O. erraticus* de establos. Pacientes con borreliosis. Población normal. Poblaciones de micromamíferos, animales domésticos y silvestres.

Determinaciones:

Aplicación del modelo animal de enfermedad de Lyme y fiebre recurrente en ratones C3H/HeN para caracterización de las cepas; estudio fenotípico y genotípico de *Borrelia* spp.; patogenicidad de las cepas en el modelo animal; estudio molecular de un epítipo ubicuo en *Borrelia* spp.; comportamiento de las cepas en la colonia de *Ixodes ricinus*; ELISA e inmunoblot en muestras de origen humano. Identificación de reservorios. Estudio de porcentajes de garrapatas infectadas en zonas endémicas.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: ANDA FERNÁNDEZ, PEDRO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 85.644,23 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: BORRELIOSIS EN ESPAÑA. FACTORES DE PATOGENICIDAD Y RESPUESTA INMUNE. ESTUDIO DE ZONAS ENDÉMICAS (Subproyecto)

PALABRAS CLAVE: B. BURGDORFERI, B. IBERICA, IXODES RICINUS, ORNITHODOROS ERRATICUS, FACTORES DE VIRULENCIA, AUTO-INMUNIDAD, ÁREAS ENDÉMICAS

CÓDIGO UNESCO: 2412.03; 2414.04

RESUMEN:

Objetivos:

Estudio de la correlación entre características moleculares de *B. burgdorferi*, su patogenicidad en animales y vectores y la evolución de la enfermedad en el modelo animal. Descripción del comportamiento de las cepas de *B. burgdorferi* en una colonia de *Ixodes ricinus*. Estudio de mecanismos de autoinmunidad en la patogénesis de borreliosis. Caracterización antigénica de *B. iberica*. Estudio de zonas endémicas de enfermedad de Lyme y fiebre recurrente.

Diseño:

Caracterización molecular de cepas de *Borrelia* spp. mediante una batería de marcadores fenotípicos y genotípicos, y estudio de la patogenicidad de las mismas en animales y vectores. Análisis de la capacidad de transmisión transtadial y transovarial de *B. burgdorferi* en *I. ricinus*. Estudio epidemiológico en zonas endémicas (localización de casos humanos y aislamiento de nuevas cepas). Duración de tres años.

Ámbito del estudio:

Zonas endémicas de La Rioja, Castilla y León y Andalucía a nivel de atención primaria. Las garrapatas (*I. ricinus* y *Ornithodoros erraticus*) serán recogidas de las mismas zonas.

Sujetos del estudio:

Se recogerán ejemplares de *I. ricinus* de vegetación y de *O. erraticus* de establos en zonas endémicas. Pacientes con enfermedad de Lyme y fiebre recurrente. Población normal de individuos en un número estadísticamente significativo para estudios seroepidemiológicos.

Determinaciones:

Aplicación del modelo animal de enfermedad de Lyme y fiebre recurrente en ratones C3H/HeN para caracterización de las cepas; estudio fenotípico y genotípico de *Borrelia* spp. mediante análisis plasmídico, fragmentos de restricción de genoma completo, así como de productos de PCR, hibridación DNA/DNA, patrón de amplicones de espacios intergénicos 5S-23S rDNA, secuenciación de extremos aminotermiales de proteínas

relacionadas con virulencia, capacidad de fijar plasminógeno, serotipos; patogenicidad de las cepas en el modelo animal; estudio molecular de un epítipo ubicuo en *Borrelia* spp.; comportamiento de las cepas en la colonia de *Ixodes ricinus*; ELISA e inmunoblot en muestras de origen humano.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: BALLESTER JAREÑO, SARA

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 45.676,92 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: PAPEL DE FACTORES NUCLEARES EN ENCEFALOMIELITIS ALÉRGICA EXPERIMENTAL Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE

PALABRAS CLAVE: EXPRESIÓN GÉNICA, NFκB, NFAT, INTERLEUQUINA 4

CÓDIGO UNESCO: 2302.21; 2407.01

RESUMEN:

Nuestro objetivo general ha sido analizar algunos de los eventos de transcripción más importantes durante la activación de linfocitos Th (actividad de c-maf, NFκB, NFAT y AP-1 y actividad génica de IL4 e IL4Rα), o diferencias entre los dos subtipos (Th1/Th2), que pudieran influir en el desarrollo o control de esclerosis múltiple y EAE. Para ello hemos utilizado tres diferentes sistemas biológicos: líneas y clones celulares, el modelo animal de EAE en ratones SJL y muestras de sangre periférica de pacientes de esclerosis múltiple. Del desarrollo de este proyecto hemos concluido que existen diferencias en cuanto a la inducción del factor NFκB a través de TCR entre linfocitos Th1 y Th2, habiendo demostrado que en Th2 existe un defecto en la degradación de IκBα mediada por TCR. Hemos caracterizado el promotor mínimo del gen de la cadena α de IL4R y hemos concluido que su actividad basal está controlada por Sp1. Hemos demostrado que el factor Stat6 actúa sobre el sitio P1 (NFAT) del promotor de IL4, afectando a la regulación de dicho gen. Por otra parte, nuestros resultados indican que la expresión exógena de c-maf en células Th1 no es suficiente para modificar el patrón de interleuquinas producido. Finalmente, aunque datos preliminares parecían indicar diferencias en la activación de AP-1 mediada por PMA y anti-TCR entre individuos sanos y afectados de esclerosis múltiple, el análisis de un mayor número de muestras ha mostrado que dichas diferencias no son estadísticamente significativas.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: BENITO LLANES, AGUSTÍN

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 15.025,30 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: USO DE AMPLIFIED FRAGMENT LENGHT POLYMORPHISM (AFLP) EN LA CARACTERIZACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE ANOPHELES GAMBIAE S.S. Y DE AISLADOS DE PLASMODIUM FALCIPARUM RESISTENTES Y SENSIBLES PROCEDENTES DE INDIVIDUOS CON DISTINTA PATOLOGÍA PALÚDICA

PALABRAS CLAVE: AFLP, ANOPHELES GAMBIAE S.S., MALARIA, POLIMORFISMO

CÓDIGO UNESCO: 2414.00; 2415.00

RESUMEN:

Antecedentes:

El eje principal del trabajo de investigación es el desarrollo y utilización de una nueva técnica denominada *Amplified Fragment Lenght Polymorphisms* (AFLP) (hasta ahora sólo utilizada en agricultura) para el tipado y mapeo genético de dos organismos diferentes pero directamente relacionados: por un lado, el principal parásito de la malaria en humanos (*Plasmodium falciparum*) y, por otro, el vector o vectores implicados en la transmisión de la malaria en África (Complejo de *Anopheles gambiae*). Por el momento, otras técnicas de biología molecular basadas en el ADN se han utilizado para mapear y tipar tanto los parásitos como sus vectores y ver su aplicabilidad en la diferenciación de aislados sensibles y/o resistentes y estudiar su relación con la virulencia de determinadas poblaciones circulantes en zonas endémicas.

Objetivos:

1. Utilización de AFLP en el tipado de diferentes poblaciones de *Plasmodium falciparum* aislados de pacientes con malaria y estudiar su aplicación en el estudio de los mecanismos de acción de las resistencias de ciertos antimaláricos, principalmente la cloroquina, y en la posible virulencia de determinados aislados para el desarrollo de las diferentes manifestaciones de la enfermedad (malaria leve, grave o complicada y malaria cerebral).
 2. Utilizar esta misma técnica para diferenciar los distintos polimorfismos presentes en los principales vectores de la malaria en África, principalmente las especies del Complejo *Anopheles gambiae*, e intentar llegar aún más lejos con la diferenciación de las posibles subespecies o polimorfismos dentro de *Anopheles gambiae* s.s., implicados en el comportamiento del vector y en la actualidad sólo detectados por citogenética en hembras semigrávidas, siendo imposible su caracterización en otros estadios del desarrollo o en machos.
-

INVESTIGADOR PRINCIPAL: CAMPOS MARQUÉS, JOSÉ

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 108.662 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: ENFERMEDAD INVASIVA POR *H. INFLUENZAE*: EPIDEMIOLOGÍA EN LA POBLACIÓN GENERAL, FACTORES DE RIESGO, RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y ESTUDIO FENOTÍPICO Y GENOTÍPICO DE LAS CEPAS CAUSALES (Proyecto coordinación)

PALABRAS CLAVE: HAEMOPHILUS, ENFERMEDAD INVASIVA, RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS, EPIDEMIOLOGÍA

CÓDIGO UNESCO: 2414.04

RESUMEN:

Objetivos:

Estudiar: 1. La incidencia acumulada (1998-2000) de enfermedad invasiva por *H. Influenzae* del serogrupo B, otros serogrupos, en especial F, y de los no capsulados en los enfermos ingresados en hospitales de Madrid, Murcia y La Rioja. 2. Estimación de la cobertura vacunal anti-Hib y posibles fallos vacunales. 3. Resistencia a antibióticos y mecanismos prevalentes implicados. 4. Factores de riesgo en la población diana. 5. Estructura poblacional de las cepas y comparación con aislamientos invasivos históricos.

Diseño:

Estudio clínico, microbiológico y epidemiológico prospectivo, cuyas fuentes de información son los laboratorios de microbiología de los hospitales participantes.

Ámbito:

Hospitales de Madrid, La Rioja y Murcia que, en estudios epidemiológicos previos de 11 CC.AA., tuvieron las tasas de incidencia de enfermedad invasiva por Hib elevadas en niños.

Sujetos:

Enfermos de población general con ingreso hospitalario diagnosticados de enfermedad invasiva por *H. Influenzae*, es decir, con cultivos de muestras normalmente estériles positivos.

Instrumentalización:

Búsqueda activa y análisis mediante protocolización de factores de riesgo en la población afectada; caracterización de las cepas mediante marcadores epidemiológicos fenotípicos y genotípicos, epidemiología molecular y reacción poblacional, resistencia a antibióticos y posibles mecanismos implicados. Estimación de tasas de vacunación frente a Hib, detección de posibles fallos vacunales, evaluación del significado clínico-epidemiológico de la infección por *H. influenzae* no serogrupables, Hib e infección por *H. influenzae* serogrupo F referido a las tasas de población general.

Resultados:

En el total del proyecto se han detectado 2.081 pacientes infectados por *H. influenzae*, entre los cuales hubo 208 casos de enfermedad invasiva, es decir, procedentes de líquidos orgánicos estériles. La enfermedad invasiva fue causada por 72 cepas capsuladas (61 fueron serotipo B, 7 serotipo F y 4 serotipo E) y 166 no capsuladas. De las cepas del serogrupo B, 46 (75%) fueron en niños ≤ 15 años. La prevalencia de la enfermedad invasiva fue de 15,7 casos/100.000 en niños ≤ 5 años en época prevacunal y de 6,2/100.000 en la postvacunal. Las coberturas de la vacuna conjugada anti-Hib fueron de 93,6% (Madrid), 95,1% (Murcia) y 91,6% (La Rioja). La resistencia a los antibióticos (ampicilina, cloramfenicol, tetraciclina, cotrimoxazol) fue significativamente superior para las cepas capsuladas en comparación de las no capsuladas. Los factores de riesgo más importantes fueron inmunodepresión, enfermedad respiratoria crónica y la edad (en los dos extremos, tanto en niños como en adultos). El estudio poblacional mediante patrones de pulsotipos PFGE demostró que la gran mayoría de las cepas del serogrupo B invasivas pertenecieron a un solo pulsotipo, al igual que los serogrupos E y F; en contraste, las cepas no capsuladas demostraron una gran variedad de pulsotipos.

Conclusiones:

La enfermedad invasiva por *H. influenzae* es un problema de salud importante a pesar de la vacunación anti-Hib; en la población general, *H. influenzae* no capsulado es la primera causa de enfermedad invasiva; entre los capsulados, el serogrupo B es el más frecuente tanto en niños como en adultos, pero otros serogrupos, sobre todo E y F, causan patologías severas; en una gran proporción de casos, sobre todo en adultos, la infección invasiva por *H. influenzae* es secundaria a enfermedades subyacentes predisponentes (inmunodeficiencia y enfermedades respiratorias crónicas, sobre todo); las cepas capsuladas son significativamente más resistentes a los antibióticos que las no capsuladas; la estructura poblacional de las cepas capsuladas es prácticamente clonal, la población no capsulada es muy heterogénea; la eficacia vacunal es muy elevada, pero persiste el riesgo de fallo vacunal y de población infantil susceptible no vacunada.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: CAMPOS MARQUÉS, JOSÉ

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 6.310,63 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: ENFERMEDAD INVASIVA POR *H. INFLUENZAE*: EPIDEMIOLOGÍA, FACTORES DE RIESGO, RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y ESTUDIO FENOTÍPICO Y GENOTÍPICO DE LAS CEPAS CAUSALES (Subproyecto)

PALABRAS CLAVE: HAEMOPHILUS, ENFERMEDAD INVASIVA

CÓDIGO UNESCO: 2414.04

RESUMEN:

Objetivos:

Estudiar la incidencia acumulada de enfermedad invasiva por *H. Influenzae*; estimación de la cobertura vacunal anti-Hib y posibles fallos vacunales, resistencias a antibióticos y mecanismos prevalentes; factores de riesgo de la población diana; estructura poblacional de las cepas.

Diseño:

Estudio prospectivo poblacional y de laboratorio.

Ámbito:

Hospitales de Madrid y La Rioja.

Sujetos:

Ingresos hospitalarios con cultivos positivos a partir de muestras estériles.

Instrumentalización:

Búsqueda activa y protocolización de casos; estudio de los aislados mediante marcadores fenotípicos y genotípicos, análisis poblacional de las cepas mediante PFGE; resistencia antibióticos, vigilancia de posibles fallos vacunales.

Resultados:

Se han detectado 143 enfermos con enfermedad invasiva debida a *Haemophilus ssp.*, el 40% fueron niños ≤ 15 años. El 87,4% de las cepas fueron *H. influenzae* y el 11% *H. parainfluenzae*; un caso de absceso cerebral fue causado por *H. paraphrophilus*; 14 casos fueron meningitis, todos ellos debidos a *H. influenzae* (no capsuladas: 54,5%; B: 36,3%; E: 9%). Del total de las cepas de *H. influenzae*, el 71% fueron no capsuladas y el 29% capsuladas (de ellas, B: 53,3%; F: 28,5%; E: 25%). El 58% de los B ocurrieron en niños ≤ 15 años. Sólo el 5,3% de las cepas aisladas de sangre fueron *H. parainfluenzae* (ninguna en LCR), en comparación con el 29% en otros líquidos estériles. El 25,5% de las cepas produjeron betalactamasa (13,3% en cepas no capsuladas y 50% en capsuladas). La resistencia a cloramfenicol fue del 1,3% en cepas no capsuladas y del 26,6% en capsuladas. Los factores de riesgo más importantes fueron inmunodepresión y enfer-

medad respiratoria previa; la cobertura vacunal fue del 93,6%, mediante vigilancia activa se confirmaron en 3 casos fallos vacunales. Las cepas no capsuladas mostraron una gran variedad de patrones de PFGE; por el contrario, las cepas de los serogrupos B, E y F mostraron una estructura genética muy homogénea y escasa variabilidad. Mediante muestreo por PCR, las cepas resistentes a ampicilina y cloramfenicol fueron portadoras de plásmidos de resistencia.

Conclusiones:

La enfermedad invasiva por *H. influenzae* es un problema de salud importante a pesar de la vacunación anti-Hib; en la población general, *H. influenzae* no capsulado es la primera causa de enfermedad invasiva; entre los capsulados, el serogrupo B es el más frecuente tanto en niños como en adultos, pero otros serogrupos, sobre todo E y F, causan patologías severas; en una gran proporción de casos, sobre todo en adultos, la infección invasiva por *H. influenzae* es secundaria a enfermedades subyacentes predisponentes (inmunodeficiencia y enfermedades respiratorias crónicas, sobre todo); las cepas capsuladas son significativamente más resistentes a los antibióticos que las no capsuladas; la estructura poblacional de las cepas capsuladas es prácticamente clonal, la población no capsulada es muy heterogénea; la eficacia vacunal es muy elevada, pero persiste el riesgo de fallo vacunal y de población infantil susceptible no vacunada.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: ECHEVARRÍA MAYO, JOSÉ MANUEL

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 19.593 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: PAPEL DEL VIRUS TOSCANA (BUNYAVIRIDAE, PHLEBOVIRUS) EN LA ETIOLOGÍA DE LAS MENINGITIS LINFOCITARIAS AGUDAS EN LEVANTE Y BALEARES

PALABRAS CLAVE: VIRUS TOSCANA, BUNYAVIRIDAE, PHLEBOVIRUS, MENINGITIS VÍRICA

CÓDIGO UNESCO: 2420.05

RESUMEN:

Objetivos:

1. Recoger muestras adecuadas de pacientes con MLA de etiología desconocida tras las pruebas rutinarias de diagnóstico etiológico.
2. Desarrollar métodos de PCR capaces de detectar la presencia de genomas de TOSV en muestras de LCR e incorporar técnicas de detección de anticuerpos específicos.
3. Investigar la infección por TOSV en las muestras recogidas.

Diseño:

Aplicación de técnicas de diagnóstico molecular y serológico para TOSV en casos de MLA negativos en las pruebas rutinarias de diagnóstico etiológico.

Ámbito del estudio:

La Comunidad Autónoma de Valencia, complementándose con muestras de Madrid y de otras CC.AA. recibidas en el CNM para diagnóstico.

Sujetos del estudio:

Cualquier paciente que presente una MLA entre los meses de junio y octubre del bienio 1998-99.

Instrumentalización:

Técnicas de detección de IgM e IgG específicas frente a TOSV y técnicas de RT-PCR para detección de ARN de TOSV.

Resultados:

Se han desarrollado e incorporado las técnicas necesarias y se han estudiado 262 casos de MLA, encontrándose 8 positivos procedentes de Almería (2), Alicante, Murcia y Madrid (4).

Conclusiones:

Se confirma la presencia del TOSV como agente etiológico de MLA no epidémica en la región mediterránea, ampliándose su área de distribución hasta la Comunidad de Madrid.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: GASPAR ALONSO-VEGA, MARÍA LUISA

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: MCYT **Importe concedido:** 48.080,97 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: ESTUDIO DE LA LINFOHEMOPOIESIS EMBRIONARIA EN MODELOS DE RATÓN Y SU PAPEL EN LA EMERGENCIA Y FUNCIÓN DEL SISTEMA INMUNE

PALABRAS CLAVE: LINFOHEMOPOIESIS

CÓDIGO UNESCO: 2412.04; 2412.08; 3207.10

RESUMEN:

En este proyecto de investigación (Coordinado), nuestros dos grupos se han localizado en los aspectos celulares y moleculares de la construcción temprana de linajes linfoides, más específicamente en su rama de linfocitos B. Se ha definido la existencia de procesos de linfopoyesis durante la mitad de la gestación del embrión de ratón, que difieren de la evolución linfoide posterior durante el tercio final de la gestación, los periodos perinatales y la vida adulta.

Hemos analizado la expresión diferencial de elementos genéticos fundamentales de la linfopoyesis B ($\lambda 5$, VpreB, IL-7 e IL-7R, componentes del receptor B, RAG-1 y -2, enzimas con actividad TdT, etc.) en áreas del embrión temprano, por sistemas de RT-PCR cuantitativa, sigue ocupando una parte importante de nuestros esfuerzos. Adicionalmente, hemos extendido estos estudios al análisis de expresión de factores de transcripción relevantes para el desarrollo linfoide B (Pax5, Id-1). Una parte importante de esta línea de trabajo ha sido la caracterización de los repertorios de los primeros reordenamientos del locus IgH en el embrión por medio de su amplificación a partir de DNA genómico con «cebadores» específicos, clonaje y secuenciación de las regiones DJH y VDJH de dicho locus. Entre otros datos de interés, hemos puesto en evidencia la existencia de una fracción importante de regiones de la unión donde se han introducido nucleótidos (N) al azar, es decir, no copiados sobre la hebra complementaria de DNA, cuando simultáneamente la enzima TdT (considerada responsable exclusiva de este fenómeno) no se expresa en absoluto. Estos hallazgos han sido confirmados en embriones obtenidos de madres RAG K.O., incapaces de ningún reordenamiento, y realizados también en animales TdT K.O., con el fin de confirmar su carácter independiente de la actividad TdT clásica. Nuestros resultados implicarían la necesidad de un mecanismo alternativo de generación de nucleótidos N en la ontogenia temprana (manuscrito en preparación). La búsqueda de alguna actividad enzimática responsable de estas inclusiones se está realizando en colaboración con el Dr. Luis Blanco, del Centro Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC), quien ha revelado varios genes con dominios típicos de polimerasa TdT. Hemos realizado análisis preliminares de su expresión temporal en el embrión para evaluar su eventual implicación en nuestros hallazgos. Por el momento, sabemos que ciertas isoformas de uno de estos genes se expresan preferencialmente en el embrión del ratón, aunque de forma ubicua, por lo que pudieran ser responsables de las inserciones N que encontramos. Analizamos en

una primera fase el fenotipo de las poblaciones celulares obtenidas *ex vivo*, y definimos su secuencia de aparición temporo-espacial, desde etapas iniciales en la esplanopleura para-aórtica (Es-PA) hasta el hígado fetal (HF), utilizando diversos Acs Monoclonales y citometría de flujo. En este último órgano postulamos la existencia de tres poblaciones mayoritarias de precursores, sugiriendo inicialmente a una de ellas (cKit+AA4.1-) como precursora de las poblaciones linfoides posteriores. Sin embargo, los estudios que hemos realizado han descartado esta primera hipótesis y han demostrado que, mediante establecimiento de colonias *B in vitro*, éstas se generan exclusivamente a partir de otra subpoblación, AA4.1 +cKit+. Preparamos una serie de Acs Mon frente a células precursoras fetales obtenidas *ex vivo*, que en general han resultado dirigidos frente a MHC de la cepa de origen (BALB/c), con la excepción de uno, que reconoce pequeñas proporciones de células en médula ósea adulta, por lo que estamos intentando una caracterización más profunda de este Ac.

Uno de los objetivos del proyecto radicaba en obtener un modelo experimental susceptible de proporcionar material embrionario accesible en cantidades apreciables, que no tuviera las restricciones de las muestras limitadas *ex vivo*, por lo que nos planteamos el establecimiento de líneas de células B derivadas de períodos embrionarios tempranos (días 10-12). Inicialmente obtuvimos y estudiamos a nivel genético varias líneas de linfocitos pre-B transformadas con virus de Abelson; sin embargo, nuestros resultados mostraron que, como corresponde a linfocitos transformados, sus respuestas y caracterización genética están condicionadas por la transformación viral, y no resultan útiles para análisis diferenciales entre muestras embrionarias y adultas. Utilizando sistemas dependientes de interacciones con células estromales definidas (células ST2) e IL-7 pudimos obtener líneas celulares no transformadas y de larga evolución en los cultivos (varios meses). Estas líneas celulares (a diferencia de las generadas en estadios ontogénicos posteriores y en el adulto) son capaces de diferenciar espontáneamente y en presencia de IL-7 a linfocitos B maduros policlonales, evolucionando continuamente en el cultivo. Estas células presentan un comportamiento *in vitro* correspondiente a su estadio madurativo de células B inmaduras, ya que responden a estímulos B específicos (anti-IgM, LPS, anti-CD40 + IL- 4) y diferencian a secreción de Igs solubles. Además, son transferibles y se expanden en ratones adultos inmunodeficientes SCID y RAG-KO, donde son capaces de generar respuestas inmunes tras inmunización. Por último, hemos comprobado que las líneas B embrionarias son transfectables, al menos de forma transitoria, con alta eficiencia. Consideramos que nuestro protocolo ha permitido generar una herramienta fundamental (hasta ahora ausente) para el estudio *in vitro* de la fisiología B en sistemas no transformados.

Finalmente, continuamos la caracterización de las poblaciones celulares obtenidas *ex vivo* ampliando el estudio con los Acs. Mon. que habíamos utilizado en una primera etapa a otros que permiten una mejor definición de los estadios en la maduración B. Uno de ellos, CD19, es el que actualmente se considera más característico de estos linfocitos, ya que se expresa únicamente en este tipo de células a partir de precursores ya cometidos. Ante nuestra sorpresa, encontramos pequeñas pero consistentes poblaciones ckit+AA4.1+CD19+, que comienzan a aparecer en la Es-PA a día 10 de gestación y en el HF un día después. Separando y purificando por métodos inmunomagnéticos y citometría de flujo esta población CD19+ y la ckit+AA4.1+CD19-, estamos finalizando la caracterización de su potencial de diferenciación a diferentes linajes hematopoyéticos. Para ello realizamos estudios *in vitro* en cultivos semisólidos (Metil-celulosa) con diversas citoquinas: stem cell factor (SCF) y GM-CSF, interleuqui-

nas 11 y 7 (IL-11, IL-7), eritropoyetina (EPO), y también realizamos estudios *in vivo*, en los que hemos transferido en forma intravenosa o intratímica los diferentes precursores a receptores adultos inmunodeficientes (RAG-KO) y a neonatos irradiados, con diferente alotipo en el locus H-2 (C57/BL6- Ly5.1+) que las poblaciones precursoras (de BALB/c). Nuestros resultados han mostrado en este sentido que la población ckit+AA4.1 +CD19- es capaz de diferenciar *in vitro* hacia linajes linfóide (T y B), mielóide y eritroide, mientras que la población obtenida *ex vivo* como ckit+AA4.1+CD19+, únicamente es capaz de diferenciar generando líneas B en cultivo o reconstituyendo el compartimento B de ratones deficientes. Estos resultados adelantan en dos días el momento en que se define una linfopoyesis ya directamente condicionada al linaje B sobre los datos previamente existentes en base a otros marcadores (B220). El análisis más fino y la relevancia funcional de esta población linfóide B primitiva son objeto de un nuevo proyecto de investigación recientemente concedido. Por último, el análisis de los requerimientos de la interfase linfocito B maduro/célula plasmática secretora de IgG resulta un aspecto fundamental, ya que éste es un paso crítico de diferenciación que da lugar al compartimiento efector del linaje que es el elemento central de las respuestas inmunes. En concreto, hemos analizado el papel jugado por el factor de transcripción Blimp-1, uno de los pocos genes que se expresan *de novo* en estadios de células preplasmáticas. Por medio de protocolos *in vitro* y tratamientos con oligonucleótidos antisentido específicos, hemos podido definir el papel indispensable de dicho gen (y otros como BSAP/Pax-5) en la generación de c. plasmáticas en el curso de respuestas T-independientes. Sin embargo, la aparición de c. plasmáticas en respuestas T-dependientes no requiere la expresión de Blimp-1.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: GONZÁLEZ DE LA CAMPA, ADELA

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 71.580,54 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: LAS ATPASAS DE PROTONES DE MEMBRANA COMO BLANCO DE ACCIÓN DE ANTIMICROBIANOS. *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* Y *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* COMO MODELOS PROCARIÓTICO Y EUCARIÓTICO, RESPECTIVAMENTE

PALABRAS CLAVE: ATPASAS DE PROTONES, DROGAS ANTIMALÁRICAS, DROGAS ANTIFÚNGICAS

CÓDIGO UNESCO: 2414; 2409; 2415

RESUMEN:

Se han clonado y secuenciado los genes que codifican las ocho subunidades (c, a, b, delta, alfa, gama, beta y épsilon) de la ATPasa de membrana F_0F_1 de *Streptococcus pneumoniae*. Estos genes se han expresado en *Escherichia coli*, lo que ha permitido el marcado específico de polipéptidos de los tamaños esperados. Los ocho genes constituyen un operón que se transcribe, a partir de un promotor típico, en un único mRNA. Se ha estudiado la expresión del operón *atp* en el rango pH 8.0- 6.0 del medio de cultivo. Se ha observado un incremento a pHs inferiores a 8.0 tanto en la actividad ATPasa, como en los niveles de las subunidades alfa y beta de F_1 . El incremento en la actividad ATPasa a pHs ácidos vino acompañado por un incremento en la cantidad del mRNA del operón *atp*. La regulación de la transcripción del operón *atp* dependiente de pH se ejerce a nivel de iniciación de la transcripción, como se deduce de experimentos de «primer extensión» y del análisis de las fusiones transcripcionales entre el promotor *atp* y el gen *cat*. Además, una mutación puntual en la región -10 del promotor eliminó este incremento de la iniciación de la transcripción a valores de pH inferiores a 8.0.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: GONZÁLEZ DE LA CAMPA, ADELA

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 8.293,97 € **Duración:** 1 año

TÍTULO: REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

PALABRAS CLAVE: STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, CONTROL DE EXPRESIÓN DE GENES

CÓDIGO UNESCO: 2409.02

RESUMEN:

El nivel de superenrollamiento del DNA celular controla la expresión del gen *gyrA* de *S. pneumoniae*. El gen *gyrB* no está sometido a dicha regulación.

La relajación del DNA por acción de inhibidores de la actividad DNA girasa, como son la cumarina novobiocina (inhibidor de GyrB) y la fluoroquinolona ciprofloxacina (inhibidor de GyrA), activa la transcripción del promotor de *gyrA*. Esta activación depende de la presencia de una curvatura intrínseca del DNA en la región promotora. Es necesaria la región comprendida entre los nucleótidos -126 a +1 (considerando en primer nucleótido de *gyrA* como nucleótido 1) para que ocurra la regulación.

El conocimiento de los mecanismos moleculares que regulan la expresión de *gyrA*, y, por tanto, el nivel de superenrollamiento del DNA celular, podría permitir en un futuro el diseño de antimicrobianos dirigidos frente a este proceso esencial.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: LÓPEZ GALÍNDEZ, CECILIO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 90.151,82 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: BASES MOLECULARES DE LA FIDELIDAD DE LA RETRANSCRIPTASA DEL VIH-1: ESTUDIO SOBRE LA EFICACIA BIOLÓGICA DE MUTANTES DE FIDELIDAD Y DE VARIANTES RESISTENTES A DROGAS ANTIVIRALES DEL VIH-1

PALABRAS CLAVE: EFICACIA BIOLÓGICA, VARIANTES, TRANSCRIPTASA EN REVERSO, RESISTENCIA

CÓDIGO UNESCO: 2420

RESUMEN:

El objetivo del proyecto es el estudio de la eficacia biológica de mutantes de fidelidad y de mutantes resistentes a drogas antivirales en el VIH-1.

Existen mutaciones alrededor de la zona catalítica de la transcriptasa en reverso (RT) del VIH-1 que tienen efecto sobre la fidelidad de copia del enzima. Estas mutaciones suponen alteraciones en la estructura del enzima, por lo que es posible que tengan repercusión en la biología del virus. Para ello, estudiamos las implicaciones biológicas que alteraciones en la Y115 tenían sobre el virus tras la inclusión de los diferentes mutantes en un clon molecular de nuestro laboratorio. Así, pudimos comprobar que sólo el cambio por Triptófano producía virus viable, aunque este virus sólo recuperaba un nivel normal de replicación cuando ocurría una mutación compensatoria en el «primer grip» en la posición M230I. Uno de los parámetros que está tomando más importancia para caracterizar los aislados es la eficacia biológica, que es un valor relativo y se obtiene de la competición de los virus a estudiar con uno de referencia. Hemos estudiado la eficacia biológica de mutantes resistentes a nevirapina en posiciones 106, 181 y 190 en ausencia y en presencia de fármaco. Pudimos comprobar la mejor eficacia de los virus resistentes en presencia de antiviral y del tipo salvaje en ausencia del inhibidor. Sin embargo, el resistente Y181C mostró una fitness superior que el virus de tipo salvaje aun en ausencia de Nevirapina. Además de estos trabajos, hemos estudiado las mutaciones responsables de las pérdidas de eficacia biológica producidas en 4 clones de una población viral tras ser sometidos a pases placa a placa en lo que se conoce por el trinquete de Muller. Hemos comprobado que en uno de estos clones sólo se encontraron 3 mutaciones entre el clon inicial y el final, en otro clon 4 y en otro 7 mutaciones. Entre estas mutaciones, se encontró una en el gen *pol* en concreto en la integrasa y en el otro en la RT en posición 194. En la actualidad se prosiguen los estudios sobre el papel de distintas mutaciones en el gen *pol* en la eficacia biológica del VIH-1, así como analizando los cambios que se producen en diversos de estos mutantes tras pases seriados en cultivos.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: MARTÍNEZ SUÁREZ, JOAQUÍN VENANCIO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 31.553,14 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: LAS ATPasas DE PROTONES DE MEMBRANA COMO BLANCO DE ACCIÓN DE ANTIMICROBIANOS: STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE Y CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS COMO MODELOS PROCARIÓTICO Y EUCARIÓTICO, RESPECTIVAMENTE

PALABRAS CLAVE: ATPasas DE PROTONES, NEUMOCOCO, ANTIMALÁRICOS, CRIPTOCOCO, ANTIFÚNGICOS

CÓDIGO UNESCO: 2414; 2409

RESUMEN:

Los mecanismos de acción de los antimaláricos de tipo amino-alcohol (quinina, quinidina, mefloquina) y de los antifúngicos poliénicos (anfotericina B, nistatina) continúan siendo controvertidos, a pesar de años de investigación intensa. Para estudiar estos mecanismos y desarrollar nuevos inhibidores más efectivos sería muy útil disponer de sistemas biológicos sencillos que permitiesen su manipulación genética. Se podrán así ensayar los antimaláricos y antifúngicos en cepas modificadas genéticamente y determinar la especificidad de las inhibiciones.

En contraposición a *Plasmodium falciparum*, el agente causal de la malaria, y a la mayoría de los hongos patógenos humanos, la bacteria *Streptococcus pneumoniae* y la levadura haploide *cryptococcus neoformans* representan modelos biológicos sensibles a antimaláricos y antifúngicos, respectivamente, que son apropiados para el análisis genético molecular. En el presente proyecto se investigarán las ATPasas de protones de la membrana plasmática de *S. pneumoniae* (ATPasa de tipo F) y de *C. neoformans* (ATPasa de tipo P) como modelos para estudiar los mecanismos de acción de antimaláricos y antifúngicos, respectivamente. La ATPasa F_0F_1 , bacteriana y la ATPasa P fúngica son funcionalmente similares, ya que se encuentran en la membrana celular actuando como bombas de protones y regulando el pH intracelular. Como ATPasas quimioosmóticas, ambas están relacionadas con el transporte y acumulación de solutos.

Se determinará la funcionalidad de la ATPasa de *S. pneumoniae* en el control del pH intracelular y la esencialidad del operón *atp*. Se estudiarán los mecanismos que regulan la expresión de los genes del operón: pH extracelular, estado de competencia celular. Se determinarán las interacciones entre la proteína c del complejo F_0 y los compuestos antimaláricos de tipo amino-alcohol.

Se caracterizará genética y bioquímicamente la ATPasa de *C. neoformans* tanto de cepas sensibles como resistentes a anfotericina B (incluyendo mutantes de laboratorio y cepas clínicas). Se correlacionará la inhibición del crecimiento en presencia del fármaco con la inhibición de la actividad ATPasa en cepas sensibles y resistentes.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: NÁJERA MORRONDO, RAFAEL

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 93.757,89 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: ESTUDIO Y SELECCIÓN DE CEPAS ATENUADAS DE VIH-1. BASE PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA FRENTE AL SIDA

PALABRAS CLAVE: VIH-1, FENOTIPO VIRAL, GEN NEF, PATOGENICIDAD, VACUNAS, CARGA VIRAL

CÓDIGO UNESCO: 2410.99

RESUMEN:

Objetivos:

Seleccionar cepas con mínima o nula patogenicidad a partir de la población heterogénea de mutantes presentes en el individuo infectado.

Diseño:

Estudio de virus ARN y ADN de pacientes de distintas características y en distintos momentos de evolución, correlacionando características de patogenicidad (carga viral y calidad de los virus sincitiales, no sincitiales, rápidos, lentos, altos, bajos, linfocitotrópicos, monocitotrópicos) con secuencias de nef en su conjunto y en epitopos CTL, zonas de unión a quinasas, plegamientos alfa y beta, presencia de delecciones, cambios de aminoácidos esenciales para la función, así como patrones de *splicing* y regiones no codificantes de ARN.

Ámbito y sujetos del estudio:

En 20 pacientes, 10 progresores típicos y 10 progresores lentos a lo largo de 3 años, al principio asintomáticos y vírgenes de terapia antirretroviral.

Instrumentalización. Determinaciones:

Seguimiento clínico-asistencial con las determinaciones habituales y obtención de muestras para aislamiento de virus y amplificación de ARN a partir de plasma y ADN y ARN a partir de linfocitos. Secuenciación de nef para su análisis. Clonaje y análisis de secuencias de distintos clones de nef. Caracterización fenotípica de las cepas aisladas.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PÉREZ BREÑA, PILAR

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 69.717,40 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: ESTUDIO DE LAS INFECCIONES REPETIDAS GRAVES, PRODUCIDAS POR VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL (VRS) Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS, EN LOS DOS PRIMEROS AÑOS DE VIDA: DEFINICIÓN, CAUSAS Y EVOLUCIÓN

PALABRAS CLAVE: REINFECCIONES, VRS, BRONQUIOLITIS, ASMA, RESPUESTA DE LOS ANTICUERPOS

CÓDIGO UNESCO: 2420.08

RESUMEN:

Objetivos:

1. Diferenciar las primoinfecciones y reinfecciones por virus respiratorios, especialmente VRS, para tratar de definir un grupo de los niños en mayor riesgo de sufrir reinfecciones tempranas, repetidas o graves. Así podrán ser tratados precozmente y ser considerados prioritarios para la instauración de tratamiento con nuevos antivirales o vacunas.
2. Establecer sus causas, en relación a:
 - a) Los virus causales, caracterizando los VRS a nivel de linajes o genotipos, los parainfluenza a nivel de tipo y los virus influenza a nivel de subtipo y de variante antigénica.
 - b) Los perfiles de anticuerpos específicos, comparando la variación de los niveles de anticuerpos en la primoinfección y en la reinfección.

Diseño:

Estudio prospectivo de casos y controles con apareamiento por edad y sexo. De los casos que se incluyan en el estudio se rellenará una ficha clínico-epidemiológica, diseñada al efecto a partir de los resultados de un estudio descriptivo de niños con infecciones repetidas detectados durante la ejecución de un proyecto desarrollado entre 1995-1997. Se estudiarán dos grupos control de niños, con y sin infección respiratoria.

Sujetos:

Niños menores de dos años con infecciones respiratorias repetidas, de origen vírico, atendidos en el Hospital Severo Ochoa de Leganés.

Determinaciones:

Se utilizarán técnicas de ELISA para caracterización de afección de IgG y de Western-Blot, para definir perfiles de anticuerpos. Para la detección de los virus implicados se utilizarán cultivos celulares, IFI y PCR. La caracterización genética de los virus se llevará a cabo por RFLP y secuenciación.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PORTELA MOREIRA, AGUSTÍN

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 73.924,49 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: *EL VIRUS DE LA GRIPE: IDENTIFICACIÓN DE DOMINIOS FUNCIONALES EN LA NUCLEOPROTEÍNA Y DESARROLLO DE SISTEMAS DE GENÉTICA INVERSA*

PALABRAS CLAVE: METODOLOGÍA DE SELEX, ANÁLISIS MUTACIONAL, REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN, MORFOGÉNESIS

CÓDIGO UNESCO: 2420.08

RESUMEN:

La nucleoproteína (NP) del virus de la gripe es un componente mayoritario de la partícula viral. La NP es una proteína nuclear que interacciona consigo misma y con el RNA genómico viral para formar complejos de Ribonucleoproteínas. La NP se requiere durante los procesos de replicación y transcripción del genoma viral y, además, debe interactuar con otras proteínas virales durante el proceso de formación del virión.

Se propone una caracterización detallada de esta proteína. Los principales objetivos a alcanzar son:

- 1) caracterización de las propiedades de unión de la NP a RNA utilizando la metodología de SELEX;
- 2) llevar a cabo un análisis mutacional, utilizando un gen clonado de NP, para identificar dominios en la proteína y aminoácidos específicos que afecten: la propiedad de autoasociación de la NP, su capacidad de unir RNA, y/o su localización celular; y
- 3) mejorar la eficiencia de los sistemas artificiales de genética inversa previamente desarrollados en el laboratorio. Estos sistemas permiten que moléculas de RNA sintéticas se encapsiden, expresen y empaqueten en partículas virales en células de mamífero que expresan las proteínas virales a partir de sus correspondientes cDNAs. Las proteínas NP mutantes que se preparen se ensayarán en dichos sistemas artificiales para identificar aquellas mutaciones que afecten la funcionalidad de la proteína durante los procesos de replicación y transcripción del genoma viral y/o de formación de la partícula viral.

De los estudios propuestos se espera obtener información sobre las actividades y dominios funcionales de la NP que eventualmente podría servir para desarrollar estrategias que bloqueen la infección viral.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PORTELA MOREIRA, AGUSTÍN

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 27.556,41 € **Duración:** 1 año

TÍTULO: SELECCIÓN IN VITRO DE LIGANDOS RNA DE ALTA AFINIDAD POR LA NUCLEOPROTEÍNA DEL VIRUS DE LA GRIPE

PALABRAS CLAVE: LIGANDOS RNA, VIRUS DE LA GRIPE, SELEX

CÓDIGO UNESCO: 2415; 2302.21

RESUMEN:

Objetivos:

1. Sobreexpresión y purificación de la NP del VG.
2. Puesta a punto del procedimiento de SELEX («systematic evolution of ligands by exponential enrichment» – «evolución sistemática de ligandos por enriquecimiento exponencial»).
3. Aislamiento y caracterización de los RNAs seleccionados.
4. Ensayos funcionales con los RNAs seleccionados.

Resultados:

A partir de un conjunto de moléculas de RNA heterogéneas que contiene 25 bases degeneradas, y utilizando la metodología de SELEX («systematic evolution of ligands by exponential enrichment» – «evolución sistemática de ligandos por enriquecimiento exponencial»), se han aislado moléculas de RNA que muestran una mayor afinidad de unión por la Nucleoproteína del virus de la gripe.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PORTOLÉS PÉREZ, PILAR

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** Sin financiación **Duración:** 3 años

TÍTULO: MOLÉCULAS DE MEMBRANA REGULADORAS DE COMPLEMENTO (CD46 Y Crry/p65): ANÁLISIS BIOLÓGICO Y GENÉTICO DE SU CAPACIDAD COESTIMULADORA EN LINFOCITOS T. IMPLICACIONES EN AUTOINMUNIDAD

PALABRAS CLAVE: COESTIMULACIÓN, Crry/p65, CD46, ARTRITIS, PROTEÍNA M, STREPTOCOCO

CÓDIGO UNESCO: 2409.02; 3207.10

RESUMEN:

Objetivos:

Analizar la capacidad coestimuladora de moléculas reguladoras del complemento (C.), pertenecientes a la familia RCA, expresadas en la membrana de linfocitos T humanos (CD46, «Membrane Cofactor Protein», MCP) y de ratón (Crry/p65); analizar las modificaciones en la activación y diferenciación de linfocitos T; analizar la interacción de CD46 con proteínas M como factor de patogenicidad de *Streptococcus pyogenes*, y estudiar el efecto de Crry/p65 en el desarrollo de artritis inducida por colágeno como modelo experimental de artritis reumatoide.

Resultados:

CD46 y Crry incrementan la proliferación y la secreción de linfoquinas en linfocitos T activados. Incrementan las señales tempranas de activación vía tirosina quinasas. También incrementan la activación de las MAP kinasas ERK y JNK, y en el caso de CD46, p38. Crry modifica las linfoquinas secretadas hacia un patrón Th2 (IL-4), pero CD46 las modifica hacia un patrón Th1 (IFN γ). A partir de células mutantes carentes de Crry se están analizando mutantes puntuales del dominio citoplásmico de CD46 y de Crry en sitios potencialmente críticos para la señalización. El tratamiento de ratones con anticuerpos anti-Crry modula la expresión de moléculas de membrana de los linfocitos y su activación, e induce un aumento de los anticuerpos anti-colágeno y los síntomas de artritis inducida por colágeno. CD46 se une de modo selectivo a cepas patógenas de *S. pyogenes*, por una región de las proteínas M semejante a la empleada por otros reguladores de la activación de C'.

Conclusiones:

CD46 y Crry modifican selectivamente las vías de activación de linfocitos T, produciendo cambios en las respuestas inmunitarias del huésped en condiciones normales y en patologías autoinmunes. Estas modificaciones pueden influir en la respuesta del huésped a organismos patógenos (como *S. pyogenes* o el virus del sarampión, que usan CD46 como receptor celular) y en la evolución de patologías autoinmunes.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PORTOLÉS PÉREZ, PILAR

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 76.881,47 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: MODULACIÓN DE LINFOCITOS T POR Crry/p65. IMPLICACIONES EN PATOLOGÍAS AUTOINMUNES

PALABRAS CLAVE: LINFOCITOS T, PROTEÍNAS REGULADORAS DE COMPLEMENTO, Crry/p65. COESTIMULACIÓN, ARTRITIS

CÓDIGO UNESCO: 2409.02; 3207.10

RESUMEN:

El objetivo de este proyecto ha sido analizar la participación de la molécula de membrana Crry/p65, reguladora de la actividad de complemento, en la activación de los linfocitos T CD4+ y en su diferenciación. Además, estudiar las aplicaciones de esta actividad en un modelo de inflamación como la artritis inducida por colágeno tipo II. Hemos descrito una doble función en la molécula Crry/p65: regulador de complemento y coestimulador de linfocitos T CD4+, que activa la proliferación y modifica el patrón de secreción de interleuquinas hacia un perfil Th2 (IL4). Las señales emitidas por Crry están mediadas por incrementos en la fosforilación de sustratos; uno de ellos es la MAP quinasa ERK; también activa la ruta de fosfoJun quinasa. Hemos obtenido mutantes deficientes en la expresión de Crry que han sido transfectados con construcciones mutantes de Crry para caracterizar la implicación del dominio citoplásmico en la señalización.

Análisis *in vivo* nos han indicado que Crry participa en la actividad de los linfocitos y que el bloqueo de Crry *in vivo* regula la expresión de otras moléculas de membrana implicadas en la activación de células T. Además, ratones tratados con anti-Crry sufren un adelanto en la inducción de artritis y un incremento en la producción de anticuerpos anti-colágeno, que puede reflejar la actividad coestimuladora mediada por Crry observada *in vitro*.

Este estudio se enmarca dentro de nuestro interés por analizar nuevas moléculas coestimuladoras de células T y su relación con el complejo TCR/CD3 y CD4, lo que ha permitido analizar también algunos mediadores implicados en las señales mediadas por CD4, ICOS y la variabilidad de las cadenas ϵ de CD3 en su extremo amino-terminal.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: TENORIO MATANZO, ANTONIO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 72.121,45 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: MÉTODOS GENÉRICOS PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HERPESVIRUS, ENTEROVIRUS Y ARBOVIRUS

PALABRAS CLAVE: EMERGENTES, HERPESVIRUS, ENTEROVIRUS, ARBOVIRUS, PCR-GENÉRICA

CÓDIGO UNESCO: 2420

RESUMEN:

Objetivos:

Obtener una batería de métodos genéricos para la detección de virus conocidos o no, clasificables como herpesvirus, enterovirus o arbovirus. En concreto:

1. La obtención de métodos de detección e identificación de virus mediante amplificación genómica con iniciadores genéricos y secuenciación del producto amplificado para los herpesvirus, enterovirus, alfavirus y flavivirus.
2. La obtención de un método capaz de detectar e identificar todos los herpesvirus humanos conocidos mediante una reacción PCR múltiple.
3. La obtención de métodos que permitan la detección e identificación de los alfavirus y flavivirus más importantes mediante PCR múltiple.
4. Valorar la posibilidad de desarrollar métodos similares para los arenavirus, hantavirus, bunyavirus, nyrovirus y phlebovirus.

Resultados:

Se han obtenido métodos sensibles para la amplificación genómica de cualquier virus perteneciente a los géneros o familias enterovirus, herpesvirus, alfavirus, flavivirus y phlebovirus. La identificación específica se realiza por secuenciación. Los métodos se han validado con virus, humanos o no, pertenecientes a dichos géneros y se están aplicando para el diagnóstico y la vigilancia de infecciones de interés para la Salud Pública.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: TORAÑO GARCÍA, ALFREDO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 36.060,73 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES Y POLICLONALES FRENTE A LEISHMANIA INFANTUM Y DESARROLLO DE INMUNOENSAYOS DE CAPTURA DE ANTÍGENO

PALABRAS CLAVE: ANTICUERPOS MONOCLONALES, LEISHMANIA

CÓDIGO UNESCO: 2407

RESUMEN:

Objetivos:

1. Obtención y caracterización de anticuerpos monoclonales frente a antígenos de *Leishmania infantum*.
2. Desarrollo de inmunoensayo (ELISA) de captura de antígeno.

Resultados:

Hemos desarrollado y purificado anticuerpos policlonales de pollo anti *Leishmania infantum*, que poseen excelente avidez por antígenos del parásito con vistas a su empleo en inmunoensayos de captura de antígeno.

Se han obtenido 30 hibridomas de ratón que secretan AcM anti *L. infantum* para ser utilizados:

- 1.º Como segundos anticuerpos en ELISA de captura de antígeno de *Leishmania*.
 - 2.º En la detección, por citometría de flujo, de amastigotes de *Leishmania* en muestras de individuos infectados.
-

INVESTIGADOR PRINCIPAL: VÁZQUEZ MORENO, JULIO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 48.381,47 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: CARACTERIZACION MOLECULAR DE LA CEPA EPIDÉMICA DE NEISSERIA MENINGITIDIS C:2b:P1.2,5

PALABRAS CLAVE: MENINGOCOCO, PULSOTIPO, ISOENZIMAS

CÓDIGO UNESCO: 2414.04

RESUMEN:

Objetivos:

Analizar las cepas de meningococo C:2b:P1.2,5, responsables de los cambios epidemiológicos sucedidos recientemente en España, y sus posibles variantes fenotípicas (B:2b:P1.2,5, C:4:P1.2,5, etc.) y compararlo con el ET15 (C:2a:P1.2,5), responsable de cambios parecidos en Canadá y República Checa.

Diseño:

Todas las cepas se analizarán mediante marcadores genotípicos (análisis de isoenzimas y electroforesis en campo pulsado), puesto que todas ellas habrán sido previamente tipadas fenotípicamente.

Sujetos del estudio:

El estudio incluirá un número no inferior a 300 cepas C:2b:P1.2,5, 50 C:2b:NST, 50 C:2b:P1.2, 50 C:2b:P1.5, así como al menos 20 variantes fenotípicas de la cepa C:2b:P1.2,5. La mayoría serán cepas aisladas en España, pero se incluirán también cepas de Reino Unido y Dinamarca. Asimismo, se analizarán alrededor de 100 cepas C:2a:P1.2,5 aisladas en España y República Checa.

Instrumentalización y Determinaciones:

En todas las cepas se realizará un estudio de isoenzimas mediante el análisis de entre 8 y 10 loci por cepa, así como un análisis del genoma mediante digestión del ADN y posterior electroforesis en campo pulsante, lo que nos permitirá tener un buen registro de los pulsotipos de la nueva cepa epidémica C:2b:P1.2,5.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: VÁZQUEZ MORENO, JULIO

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 15.097,42 € **Duración:** 1 año

TÍTULO: DESARROLLO DE UN NUEVO MÉTODO DE TIPADO MOLECULAR PARA EL CONTROL EPIDEMIOLÓGICO DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN LA COMUNIDAD DE MADRID

PALABRAS CLAVE: MARCADOR MOLECULAR

CÓDIGO UNESCO: 2414.04

RESUMEN:

Objetivos:

1. Desarrollar y poner a punto el procedimiento de *multilocus sequence typing* (MST) para el tipado molecular de diferentes aislamientos de *Listeria monocytogenes* procedentes de la Comunidad de Madrid. Para ello hay que elegir entre seis y ocho genes de entre los que codifican enzimas metabólicos, sobre la base de la existencia en los mismos de regiones variables que permitan obtener un grado de discriminación satisfactorio.
2. Estudiar y relacionar las características (serotipo, biotipo y genotipo) de los aislamientos clínicos y ambientales en nuestro medio.
3. Detectar la posible existencia de clones bacterianos asociados con unos determinados tipos de muestra (de origen alimentario, animal o clínico), para asociar los marcadores bacterianos con las manifestaciones clínicas de la enfermedad, en una fase posterior del estudio.

Resultados:

El desarrollo del proyecto de investigación ha permitido la identificación de siete genes *housekeeping* y, dentro de ellos, regiones variables de entre 400 y 500 pares de bases, que van a permitir en un futuro próximo la aplicación de *multilocus sequence typing* como marcador molecular de *Listeria monocytogenes*. No obstante, la falta de financiación, por no haber obtenido prórroga de la Comunidad de Madrid, va a dificultar seriamente la obtención de objetivos.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: VINDEL HERNANDO, ANA MARÍA

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 63.106,27 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: ANÁLISIS MOLECULAR DEL GEN *fliC* DE CEPAS DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA AISLADAS DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

PALABRAS CLAVE: PSEUDOMONAS AERUGINOSA, FLAGELINAS, FIBROSIS QUÍSTICA

CÓDIGO UNESCO: 2414.04

RESUMEN:

Objetivos:

Determinar las secuencias de la región variable del gen *fliC* que codifican para la flagelina a y b en muestras de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de pacientes con fibrosis quística, comparadas con las descritas por otros autores para diseñar cebadores específicos que nos permitan caracterizar cepas de pacientes a lo largo del tiempo y comparar los resultados con los patrones obtenidos por PFGE y conocer si las exacerbaciones coinciden con un determinado tipo de cepa.

Sujetos del estudio:

Pacientes con diagnóstico de fibrosis quística infectados por *Pseudomonas aeruginosa*. Se estudiarán aislados de pacientes obtenidos en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Ramón y Cajal durante un período de diez años en estudios de seguimiento o intervalos de exacerbaciones de los que poseemos una colección de 1.088 cepas.

Determinaciones:

Mediante PCR se amplificará la región hipervariable del gen *fliC*, que será secuenciada en una selección de cepas de pacientes con FQ, con objeto de comprobar la homogeneidad de esta región para poder diseñar cebadores que generen amplicones específicos, que serán probados para caracterizar las cepas. Se realizará un estudio del ADN cromosómico de cepas de pacientes con FQ mediante el campo pulsado aisladas durante un período de diez años. Ambos resultados se compararán con los obtenidos mediante los marcadores convencionales (serotipia, fagotipia y antibiotipia).

INVESTIGADOR PRINCIPAL: FERNÁNDEZ PATIER, ROSALÍA

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 18.030,36 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: ELABORACIÓN DE UN MAPA DE RIESGO SANITARIO Y MEDIOAMBIENTAL DEL OZONO TROPOSFÉRICO EN LA COMUNIDAD DE MADRID

PALABRAS CLAVE: OZONO TROPOSFÉRICO

CÓDIGO UNESCO: 2501.05

RESUMEN:

Objetivos:

1. Desarrollo de la metodología de sistemas pasivos, como método de medida de ozono, nocivo para la salud humana, basada en el uso de muestreadores pasivos, de bajo coste adquisitivo, al objeto de cubrir amplias áreas de muestreo, sin ampliar el gasto económico.
2. Contrastación empírica de la técnica de muestreadores pasivos con la metodología automática de análisis de gases, con el fin de ponderar su eficiencia, dadas las ventajas de su empleo en la acción del proyecto.
3. Desarrollo de campañas de medición durante los períodos de mayor actividad fotoquímica (de mayo a septiembre) en la Comunidad de Madrid, con el objeto de obtener los datos necesarios para elaborar un mapa regional en el que queden reflejados los distintos niveles de las concentraciones de ozono significativamente perjudiciales para la salud y vegetación.
4. Identificación de las posibles zonas calientes para el ozono superficial.

Resultados:

Científicos:

Con los resultados de este proyecto, la Comunidad de Madrid dispone de un mapa de riesgo de ozono superficial, que puede utilizar para la ubicación de nuevas estaciones de medida de la contaminación atmosférica por contaminantes secundarios, para realizar estudios epidemiológicos (asma versus ozono), así como aplicarlo a efectos sobre la vegetación. Estos estudios se deberían realizar preferentemente en la zona oeste de la Comunidad de Madrid.

Tecnológicos:

Con este proyecto se ha validado un sistema de bajo coste que permite la realización de mapas de ozono superficial. Estos sistemas pueden ser utilizados como métodos indicativos para la Directiva 96/62/CE, de evaluación y gestión de la calidad de aire ambiente.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: MÉNDEZ GONZÁLEZ, JAVIER

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 6.857,55 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: IDENTIFICACIÓN DE AGENTES TÓXICOS EN MATRICES COMPLEJAS DE AGUAS PROCEDENTES DE RÍOS DE LA COMUNIDAD DE MADRID

PALABRAS CLAVE: AGUA RESIDUAL, TOXICIDAD, BIOENSAYO

CÓDIGO UNESCO: 3214

RESUMEN:

Objetivos:

1. Evaluar la toxicidad de muestras de vertidos industriales procedentes de la Comunidad de Madrid, seleccionadas en base a criterios de supuestas características de toxicidad y, por consiguiente, consideradas como peligrosas para el medio ambiente.
2. Proporcionar herramientas adecuadas para la identificación de las fracciones tóxicas de los vertidos industriales.
3. Proponer, en base a los resultados obtenidos en los estudios anteriormente citados, los métodos más adecuados para poder neutralizar la toxicidad de los vertidos estudiados, con el fin de minimizar o eliminar los riesgos potenciales para el medio receptor.

Resultados:

En este estudio de los principales ríos de la Comunidad de Madrid ha quedado patente que esporádicamente se han detectado herbicidas del grupo estudiado, confirmándose por ELISA y HPLC, lo cual indica una buena concordancia entre el test y el ensayo químico. Igualmente, no se han detectado metales pesados en concentraciones por debajo de los límites que permitía la técnica analítica empleada. Respecto a los parámetros físico-químicos tenidos en cuenta para comprobar la calidad de las aguas, se ve en general una paulatina degradación a lo largo de las cuencas estudiadas, como ha quedado descrito en el informe científico, cuyos valores no son en general superiores a los establecidos en la Directiva comunitaria de aguas destinadas a la producción.

Este trabajo deberá intensificarse en otro proyecto tratando de considerar otros compuestos orgánicos de interés de cara al nuevo reglamento de vertidos y aplicar técnicas de detección aún más sensibles, como la determinación de metales con cámara de grafito.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: RIBAS OZONAS, BARTOLOMÉ

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 34.978,90 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: EVALUACIÓN DEL ESTATUS TÓXICO OXIDATIVO Y SU REPARACIÓN EN MODELOS DE DEGENERACIÓN NEURONAL

PALABRAS CLAVE: GENOTOXICIDAD, METALOTIONEÍNA, Cd, Fe, Hg, Pb, Ni, HL-60, DEGENERACIÓN NEURONAL, CAMPOS ELECTRO-MAGNÉTICOS

CÓDIGO UNESCO: 3214

RESUMEN:

Se detectan bioindicadores moleculares y elementos minerales durante la degeneración neuronal de células PC12 (Pheochromocytoma) productoras de catecolaminas, y de HL-60, *in vitro*, por ausencia de aminoácidos aromáticos esenciales, precursores de catecolaminas y neurotransmisores como adrenalina, noradrenalina, fenilalanina y serotonina. También se realizan experimentos *in vivo*, en ratas y ratones, sometidos a campos electromagnéticos, por la incidencia de parámetros fisiológicos simultáneos en la exposición humana. Se han aplicado los elementos de polución ambiental hierro, cadmio, mercurio, plomo. Se observa mediante electroforesis capilar un incremento de las concentraciones de metalotioneína, péptido de 7 KD, de gran poder reductor, por sus 20 cisteínas de un total de 60 aminoácidos. Mediante HPLC se detecta un incremento de glutatión y de acetilcisteína. El selenio Se(II) hasta 10^{-4} M es tóxico, mientras que a las concentraciones entre 10^{-5} y 10^{-7} M induce a una elevación de los niveles de glutatión. Han sido presentadas dos tesis doctorales.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: RIBAS OZONAS, BARTOLOMÉ

CENTRO: CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

ENTIDAD FINANCIADORA: CM **Importe concedido:** 12.020,24 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: EFECTOS SOBRE LA SALUD DE CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS DE RADIOFRECUENCIA DE USO INDUSTRIAL Y DOMÉSTICO: BIOINDICADORES MOLECULARES, DOSIMETRÍA Y MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS

PALABRAS CLAVE: CAMPOS ELECTROMAGNÉTICOS, Cd, Fe, Hg, Pb, RADIOFRECUENCIA, BARRERA HEMATOENCEFÁLICA, BIOINDICADORES

CÓDIGO UNESCO: 3214

RESUMEN:

No se han observado cambios morfológicos ni moleculares en cultivos de células HL-60 de leucemia humana. No han sido observadas modificaciones morfológicas (micronúcleos) por roturas de DNA después de 12, 24, 48 y 72 horas de exposición a la intensidad de 62 Gauss y frecuencia de 50 Hz. Ello corrobora que los campos electromagnéticos de muy baja frecuencia de uso doméstico (50 Hz) no inducen modificaciones morfológicas ni lesiones en el DNA a intensidades de 0,5 amperios. Este campo electromagnético se corresponde aproximadamente con 27,5 Gauss, es decir, unas 60 veces el campo magnético ambiental de la Tierra, a que estamos sometidos los seres vivos. La cifra de 27,5 Gauss se corresponde aproximadamente con un campo de 3 mTeslas, que como orientación corresponden de tres a cuatro órdenes de magnitud superior a los campos generados por diferentes aparatos electrodomésticos.

En muestras de tejidos humanos (biopsia) se ha observado disminución de la concentración de metalotioneína, después de exposiciones de 10, 20 y 30 minutos, tiempos que se consideran correctos de utilizar el teléfono celular (móvil) por día, de un ciudadano medio, a intensidades de 0,5 y 1 vatio a la frecuencia de 2,45 gigahertzios. Este péptido de peso molecular 7.000 D (denominado generalmente pequeña proteína) es considerado péptico transportador y liberador de iones metálicos catalíticos en sistemas biológicos (trabajo no publicado).

Asimismo, aumenta la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en el ratón, por el efecto de los campos electromagnéticos (27,5 Gauss, 50 Hz), y se acusa un sinergismo en presencia de tóxicos (mercurio frecuente en pescados, cadmio en alimentos y agua, y plomo en gasolina y otras fuentes), trabajos en espera de publicación, reflejados en dos tesis doctorales.

Las publicaciones han promovido numerosas llamadas y cartas sobre el tema, y como resultado de unas y otras, y de la coincidencia de datos clínicos, reflejados en los sistemas de mayor inervación electroquímica (nervioso y psíquico, epidérmico, oftálmico), sugerimos la existencia de un «Síndrome de hipersensibilidad electromagnética» en individuos con predisposición.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PEREIRA CANDEL, JOAQUÍN

CENTRO: ESCUELA NACIONAL DE SANIDAD

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 14.183,89 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: DETERMINACIÓN DE LA CARGA DE ENFERMEDAD EN ESPAÑA EN 1994 MEDIANTE EL CÁLCULO DE LOS AÑOS DE VIDA AJUSTADOS POR DISCAPACIDAD

PALABRAS CLAVE: CARGA DE ENFERMEDAD, AÑOS DE VIDA AJUSTADOS POR DISCAPACIDAD, MORTALIDAD, DISCAPACIDAD

CÓDIGO UNESCO: 3212

RESUMEN:

Objetivos:

Cuantificar las consecuencias mortales y discapacitantes de las distintas enfermedades y lesiones en la población española en el año 1994, mediante la utilización de los Años de Vida Ajustados por Discapacidad (AVADs), como instrumento de medida.

Diseño:

Estudio observacional descriptivo basado en el análisis retrospectivo de la incidencia, mortalidad y discapacidad causadas por las distintas enfermedades y lesiones.

Ámbito del estudio:

Población residente en España en 1994.

Fuentes de información:

Mortalidad: Registro de defunciones por causas del INE (1994); *Incidencia y prevalencia:* Enfermedades de declaración obligatoria, Registros de Cáncer, Registro Nacional de casos de SIDA, Encuesta de Morbilidad Hospitalaria, Conjunto Mínimo de Datos Básicos, Boletín de Accidentes de Tráfico, Estadística de Accidentes de Trabajo; *Discapacidad:* Encuesta Nacional de Salud, Encuesta de Discapacidades, Deficiencias y Minusvalías; *Otras fuentes:* Estudios y encuestas sobre incidencia, prevalencia, duración y niveles de discapacidad, nacionales e internacionales.

Determinaciones:

Cálculo de los AVADs atribuibles a las distintas enfermedades y lesiones, por sexos, grupos de edad y ámbitos territoriales, y de sus dos componentes: Años de Vida Perdidos por muerte prematura (AVP) y años de vida perdidos por discapacidad (AVD). Para llevar a cabo estos cálculos se cuantifica la mortalidad por causas y se realizan estimaciones de incidencia, prevalencia, duración, edad de inicio y grado de discapacidad asociado a estas mismas causas, examinando la consistencia interna de los parámetros mencionados mediante el software de simulación DISMOD.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PEREIRA CANDEL, JOAQUÍN

CENTRO: ESCUELA NACIONAL DE SANIDAD

ENTIDAD FINANCIADORA: UE **Importe concedido:** 445.000 ecus **Duración:** 3 años

TÍTULO: PONDERACIÓN DE DISCAPACIDAD PRODUCIDA POR LAS ENFERMEDADES EN EUROPA
Sigla: EuroDW

PALABRAS CLAVE: PONDERACIÓN DE DISCAPACIDADES, CARGA DE ENFERMEDAD, MEDIDAS DE SALUD SINTÉTICAS, AÑOS DE VIDA AJUSTADOS POR DISCAPACIDAD

CÓDIGO UNESCO: 3212

RESUMEN:

Objetivos:

Los objetivos del proyecto en conjunto fueron:

1. Desarrollo de un protocolo europeo estandarizado para estimar el nivel de discapacidad asociada a un amplio número de enfermedades.
2. Estimación de medidas ponderadas de discapacidad específicas por país, mediante la aplicación de un protocolo de evaluación de preferencias similar en cada uno de los siete países participantes.
3. Valoración de la fiabilidad y validez de la metodología aplicada para obtener medidas de discapacidad ponderadas.
4. Comparación de la estabilidad de los niveles de discapacidad obtenidos en los diferentes países e interpretación de las diferencias observadas.
5. Cada país tendrá la posibilidad de aplicar los pesos de discapacidad obtenidos en la construcción de medidas sintéticas de salud útiles para la toma de decisiones en política sanitaria. Utilizando los datos de incidencia y prevalencia de cada país, se podrá calcular y comparar la carga de enfermedad atribuible a aquellas enfermedades que suponen los mayores problemas de salud en Europa.

Resultados:

Los beneficios y el valor añadido para los países europeos del proyecto pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. El progreso científico y las contribuciones al conocimiento de los métodos utilizados para estimar la carga de enfermedad en estudios nacionales e internacionales. Desde una perspectiva metodológica, el proyecto ha desarrollado y probado varios métodos de ponderación de las discapacidades asociadas a las enfermedades, para cuantificar la carga de enfermedad mediante el cálculo de los Años de Vida Ajustados por Discapacidad.

2. Las estimaciones empíricas del nivel de discapacidad para varias enfermedades relevantes en el contexto europeo y el análisis de las diferencias entre países.
3. Las estimaciones empíricas de carga de enfermedad expresadas en Años de Vida Ajustados por Discapacidad para las enfermedades seleccionadas en los países participantes, y el análisis de las causas que inducen las diferencias entre países: variaciones reales, efectos aleatorios y sesgos de la información.
4. El establecimiento de una red europea de investigación sobre estos aspectos. Como resultado de esta acción coordinada, se ha establecido una colaboración estrecha entre grupos de investigación e investigadores individuales. La red representa un importante valor añadido a los esfuerzos nacionales de investigación.

Una selección de los datos obtenidos en este proyecto se harán públicos y estarán disponibles vía Internet, posiblemente en la página web de la Red Internacional de Carga de la Enfermedad (www.IBDN.net), una vez que las publicaciones conjuntas del proyecto hayan sido aceptadas en revistas científicas.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: PLITT GÓMEZ, CLEMENCIA

CENTRO: ESCUELA NACIONAL DE SANIDAD

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 6.629,16 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: CARACTERIZACIÓN DE LA FORMACIÓN ADQUIRIDA POR LOS ALUMNOS DE ENFERMERÍA EN PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN HOSPITALARIA Y RIESGOS LABORALES

PALABRAS CLAVE: ESTUDIANTE DE ENFERMERÍA, FORMACIÓN, CONOCIMIENTOS ASIMILADOS, RIESGOS LABORALES, INFECCIÓN HOSPITALARIA, PREVENCIÓN, VIH/SIDA, VHB

CÓDIGO UNESCO: 3210

RESUMEN:

Objetivos:

Evaluar los conocimientos adquiridos por los estudiantes de Enfermería en prevención de la infección hospitalaria y riesgos laborales, difundiendo los resultados a los organismos relacionados con la formación en Enfermería, para identificar posibles acciones que contribuyan a mejorarla, tanto en el período de formación como en el desarrollo de la profesión.

Diseño:

Estudio descriptivo transversal.

Ámbito:

Alumnos de las Escuelas Universitarias de Enfermería (EUE) de España.

Métodos:

Cuestionario autocumplimentado enviado por correo y previamente validado. Reunión de consenso con los participantes en el estudio donde se presentaron los resultados y conjuntamente se elaboraron las conclusiones definitivas y se implementó el plan de trabajo.

Análisis:

Descriptivo, tabulando y representando gráficamente las variables recogidas en el cuestionario. Se contrastaron asociaciones entre las variables del estudio.

Resultados:

87% de respuesta. El 72% de los alumnos de las EUE españolas tienen conocimientos aceptables en prevención de la infección hospitalaria. Existen diferencias significativas entre las escuelas públicas y privadas, según el nivel de conocimientos en los aspectos estudiados. No existen diferencias significativas entre las respuestas con relación al número de horas impartidas en las EUE en prevención de la infección hospitalaria recogidas en el proyecto FIS 96/0472 y las respuestas por parte de los alumnos sobre conocimientos asimilados en estos aspectos.

Conclusiones:

Existe necesidad de revisar los programas sobre prevención y control de la infección hospitalaria y riesgos laborales biológicos y así determinar con exactitud qué contenidos se imparten y en qué asignaturas se encuentran. Los alumnos de las EUE son conscientes del riesgo biológico que conlleva el desarrollo de las prácticas clínicas. Las Precauciones Universales o Estándar deben ser recordadas al alumno antes del inicio de sus prácticas, siendo importante la participación del personal de Enfermería de servicios de Medicina Preventiva de los hospitales docentes.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: SARRIA SANTAMERA, ANTONIO

CENTRO: ESCUELA NACIONAL DE SANIDAD

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 42.191,05 € **Duración:** 3 años

TÍTULO: DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS POBLACIONALES PARA LA EVALUACIÓN DE LA PRÁCTICA MÉDICA Y DE LA ASISTENCIA SANITARIA EN ESPAÑA

PALABRAS CLAVE: EPIDEMIOLOGÍA, ATENCIÓN MÉDICA, EVALUACIÓN DE RESULTADOS, IMPACTO POBLACIONAL EN LA SALUD

CÓDIGO UNESCO: 3212

RESUMEN:

Objetivos:

Desarrollar y validar métodos poblacionales para la evaluación de la práctica médica y de la asistencia sanitaria en España.

Unidad de análisis:

Áreas pequeñas.

Fuentes de información:

Utilización de bases de datos administrativas desarrolladas para la evaluación del funcionamiento del sistema sanitario español: Encuesta de Morbilidad Hospitalaria, Base de Datos Aldeberán y Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD).

Resultados:

Existen importantes desigualdades territoriales en España tanto en recursos hospitalarios instalados como en la utilización de los mismos. Se observa una asociación estadísticamente significativa entre la mayor disponibilidad de camas y la mayor utilización global de hospitales. Esta relación se detecta especialmente para procedimientos y motivos de ingreso con mayor incertidumbre en cuanto a los beneficios de la hospitalización o del procedimiento.

Conclusiones:

Los resultados de este estudio permiten plantear la hipótesis de que las variaciones en la utilización de hospitales pueden deberse al efecto combinado de la incertidumbre sobre los resultados de un procedimiento y a las diferencias en la oferta.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: NAVARRO Y GARCÍA, RAMÓN

CENTRO: MUSEO DE LA SANIDAD

ENTIDAD FINANCIADORA: FIS **Importe concedido:** 36.361 € **Duración:** 2 años

TÍTULO: ANÁLISIS DE LA SANIDAD EN ESPAÑA A LO LARGO DEL SIGLO XX

PALABRAS CLAVE: MORTALIDAD, MORBILIDAD, ESTUDIO DE ENFERMEDADES

CÓDIGO UNESCO: 3212; 5205.01; 5206

RESUMEN:

Se estudia la evolución de la Sanidad, a través del siglo xx, en base a dos indicadores fundamentales de Salud: la mortalidad y la morbilidad específica.

Análisis:

En general se han conseguido todos los datos de mortalidad desde 1900 hasta 1997 (último publicado por el Instituto Nacional de Estadística), y todos los datos de morbilidad desde 1944 hasta 1999.

El trabajo se ha dividido en tres grandes capítulos:

1. Estudio demográfico.
2. Estudio de las Enfermedades Transmisibles.
3. Estudio de las Enfermedades no Transmisibles.

Conclusiones:

1. La población española se duplicó en el siglo xix y se ha vuelto a duplicar en el siglo xx.
2. La natalidad se ha mantenido alta hasta 1975, cayendo desde entonces hasta límites poco esperanzadores.
3. La mortalidad ha ido descendiendo progresivamente hasta su estabilización.
4. La esperanza de vida se ha duplicado, pasando desde menos de 40 a 80.
5. Las Enfermedades Transmisibles han cedido protagonismo a las Degenerativas y Traumatismos.
6. En este período han sido erradicadas de España nueve enfermedades: la peste, la fiebre amarilla, la viruela, el cólera, el tifus exantemático, la rabia, la poliomielitis, el paludismo y la difteria.
7. Están prácticamente controladas otras doce enfermedades: el carbunco, la disentería, la fiebre recurrente, la lepra, la parotiditis, la rubéola, el sarampión, la sepsis puerperal, el tétanos, la tos ferina, el tracoma y la triquinosis.

8. Siguen constituyendo problema sanitario, por su mortalidad en 1997 (por este orden): la septicemia, la hepatitis, la tuberculosis, la gripe, el SIDA, la infección meningocócica, la hidatidosis.
9. Y por su morbilidad, también hay que señalar las diarreas, las toxiinfecciones alimentarias, la fiebre reumática, la fiebre tifoidea, la brucelosis y la leishmaniasis.
10. Entre las Enfermedades degenerativas destacan por su mortalidad, a finales de siglo (por este orden): el cáncer, las enfermedades isquémicas del corazón, las enfermedades cerebrovasculares, la insuficiencia cardíaca, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la diabetes, la neumonía, la cirrosis hepática, los accidentes de circulación, las nefritis y la aterosclerosis.

De todas ellas, por los años potenciales de vida perdida, hay que señalar especialmente: los accidentes de circulación, el cáncer, las enfermedades isquémicas del corazón, la insuficiencia cardíaca y la cirrosis hepática

INVESTIGADOR PRINCIPAL: CEPEDA CASARES, ROSA

CENTRO: SERVICIO DE PRODUCTOS SANITARIOS

ENTIDAD FINANCIADORA: UE **Importe concedido:** 22.700 ecus **Duración:** 3 años

TÍTULO: *CORRELACIÓN ENTRE DURABILIDAD DE MEDIAS DE COMPRESIÓN TERAPÉUTICA Y FUNCIONALIDAD CLÍNICA*

PALABRAS CLAVE: MEDIAS DE COMPRESIÓN TERAPÉUTICA, DURABILIDAD, MÉTODOS DE ENSAYO

CÓDIGO UNESCO: 3314

RESUMEN:

Objetivos:

El proyecto tiene como finalidad comprobar la capacidad de las medias para mantener las propiedades de compresión específicas para su clase, a lo largo de su vida útil. La UE, dentro del Programa *Measurement and Testing*, consideró importante subvencionar el presente proyecto de correlación entre la medida de la durabilidad en el laboratorio y su funcionalidad clínica.

Desarrollar y validar un método para medir objetivamente la durabilidad de las medias elásticas terapéuticas. Establecer la correlación entre el comportamiento de las medias en uso y la durabilidad obtenida en los ensayos de laboratorio.

Diseño:

El ensayo se llevó a cabo en 75 pacientes seleccionados por médicos especialistas en cardiovascular, que realizaron el diagnóstico, indicaron el tipo de media a utilizar en cada paciente y llevaron a cabo el control inicial y siguientes de los pacientes. Los pacientes llevaron las medias durante nueve meses y el laboratorio realizó la medida de la compresión ejercida por las medias a tiempo cero, al tercer, sexto y noveno mes. Posteriormente se seleccionaron 125 pares de medias de diferente composición para estudiar el comportamiento de los distintos tejidos frente a las sustancias químicas. Se impregnaron las medias en sudor artificial en presencia y ausencia de ácidos grasos y se las sometió a elongación mecánica estática. Se midió la compresión ejercida por las medias antes de ser sometidas al tratamiento químico y tras la primera, segunda, tercera y cuarta semana de acondicionamiento en estufa a 35°C. El ensayo se realizó a diferentes valores de pH.

Resultados:

Los resultados obtenidos en el ensayo realizado en pacientes son parcialmente incompletos por varios motivos. En primer lugar, algunos pacientes no entregaron sus medias en los controles intermedios, interrumpieron el ensayo o no las devuelven al final. La evaluación de los resultados resulta difícil de realizar debido a que los periodos en que han sido llevadas por los pacientes no siempre corresponden al mismo número de días, a pesar de que se les entregaron instrucciones claras al respecto. Teniendo en cuenta estas premisas, se observa que la mayor pérdida de pre-

sión tiene lugar en las medias en cuya composición están presentes el poliéster y el elastano.

Los resultados obtenidos en el tratamiento químico demuestran que:

- El calor seco prácticamente no influye en la pérdida de compresión de las medias.
 - El lavado no daña las medias si se realiza en las condiciones adecuadas.
 - La hidrólisis de los hilos elásticos que forma el tejido es la causa principal de la disminución de la compresión. La pérdida de elasticidad y flexibilidad de las medias parece ser debida a una combinación de humedad, ataque químico y calor, sobre todo cuando tiene lugar a pH 7 y en ausencia de ácidos grasos.
 - La mayor pérdida de compresión tiene lugar principalmente en las dos primeras semanas de tratamiento.
 - Las medias constituidas por poliéster y elastano son más sensibles a las condiciones de ensayo utilizadas, lo que concuerda con los resultados obtenidos en el ensayo en uso.
-